

EFEK IMUNOMODULATOR FRAKSI ETANOL DARI EKSTRAK ETANOL 70% KULIT BUAH MANGGIS (*Garcinia mangostana* L.) BERDASARKAN PENINGKATAN AKTIVITAS DAN KAPASITAS FAGOSITOSIS SEL MAKROFAG PERITONEUM MENCIT SECARA *IN VITRO*

IMMUNOMODULATOR ASSAY OF ETHANOLIC FRACTION OF 70% ETHANOLIC EXTRACT OF MANGOSTEEN FRUIT PERICARP BASED ON IN VITRO INCREASING PHAGOCYTOSIS ACTIVITY AND CAPACITY OF MICE PERITONIUM MACROPHAG

Hariyanti, Hadi Sunaryo, Sari Nurlaily

Fakultas Farmasi dan Sains, Universitas Muhammadiyah Prof. DR. HAMKA
Jl. Limau II, Kebayoran Baru, Jakarta Selatan, Jakarta
Email: atie_am@yahoo.com (Hariyanti)

ABSTRAK

Manggis (*Garcinia mangostana* L.) merupakan buah yang prospektif untuk dikembangkan. Secara empiris kulit buah manggis digunakan untuk pengobatan berbagai penyakit. Penelitian sebelumnya menunjukkan bahwa fraksi butanol-air ekstrak kulit buah manggis secara *in vitro* mempunyai aktivitas sebagai imunomodulator. Pada penelitian ini, uji imunomodulator dilakukan secara *in vitro* dengan parameter aktivitas dan kapasitas fagositosis sel makrofag yang diambil dari peritoneum mencit, menggunakan fraksi etanol 70% dalam konsentrasi 0,1; 1,0; 10,0; 100,0; dan 1000,0 ppm. Stimulo sebagai kontrol positif. Dari hasil uji ANOVA satu arah diketahui bahwa hasil percobaan uji efek imunomodulator berdasarkan peningkatan aktivitas dan kapasitas fraksi etanol dari ekstrak etanol 70% menunjukkan adanya perbedaan bermakna dari masing-masing perlakuan. Uji *Tukey* menunjukkan adanya perbedaan bermakna dari konsentrasi 0,1; 1,0; 10,0; 100,0; dan 1000,0 ppm dibandingkan terhadap kontrol negatif. Aktivitas dari fraksi etanol pada konsentrasi 0,1; 1,0; 10,0; dan 100,0 ppm lebih kecil dari kontrol positif, tetapi pada konsentrasi 1000,0 ppm mempunyai aktivitas yang sama atau tidak ada perbedaan yang bermakna dengan kontrol positif. Untuk kapasitas makrofag, fraksi etanol pada konsentrasi 0,1; 1,0; 10,0; 100,0; dan 1000,0 ppm memiliki nilai kapasitas lebih tinggi dibandingkan dengan kontrol negatif, tetapi masih dibawah kontrol positif. Dari data tersebut disimpulkan bahwa fraksi etanol ekstrak etanol 70% pada dosis 1000,0 ppm memiliki aktivitas sebagai imunomodulator.

Kata kunci: fagositosis, fraksi etanol, *Garcinia*, imunomodulator.

ABSTRACT

The immunomodulator assay of ethanol fraction of 70% ethanolic extract of Mangosteen pericarp based on increased number of intraperitoneal macrophage phagocytocide latex after infected by S. epidermidis. Five concentrations of ethanol fraction of 70% ethanolic extract Mangosteen pericarp was used, they were 0.1; 1.0; 10.0; 100.0; and

1000.0 ppm, respectively. Stimuno was used as the positive control, while distilled water was used as the negative control. Phagocyte activity was measured by in vitro ability of mice peritoneal macrophages to phagocytize latex particles. The result of this research indicated ethanol fractions at the concentrations of 0.1; 1.0; 10.0; 100.0 ppm possessed a lower activity than that of positive control. Somehow, macrophage activity at the dose of 1000.0 ppm was not significantly different to that of the positive control. The result indicated that ethanol fraction of 70% ethanolic extract of mangosteen pericarp induced immune response at the concentration of 1000 ppm.

Key words: *ethanol fraction, Garcinia, immunomodulator, phagocytosis.*

Pendahuluan

Buah manggis (*Garcinia mangostana* L.), memiliki prospek yang cukup baik untuk dikembangkan. Kandungan kulit buah manggis adalah xanton, mangostin, garsinon, flavonoid dan tanin. Xanton merupakan derivat dari difenil-y-pyron, yang memiliki nama IUPAC 9H-xantin-9-on. Xanton terdistribusi luas pada tumbuhan tinggi, tumbuhan paku, jamur, dan tumbuhan lumut. Sebagian besar xanton ditemukan pada tumbuhan tinggi yang dapat diisolasi dari empat suku, yaitu *Guttiferae*, *Moraceae*, *Polygalaceae*, dan *Gentianaceae* (Vieira, 2005). Xanton dilaporkan memiliki aktivitas farmakologi sebagai antibakteri, antifungi, antiinflamasi, antileukemia, antiagregasi platelet, selain itu xanton dapat menstimulasi sistem saraf pusat dan memiliki aktivitas antituberkulosis secara *in vitro* pada bakteri *Mycobacterium tuberculosis* (Chaverri, 2008).

Ekstrak kulit buah manggis mempunyai efek meredam radikal bebas (Mardawati, 2008). Radikal bebas (R^*) adalah suatu atom, molekul atau senyawa yang dapat berdiri sendiri, mempunyai elektron satu atau lebih yang tidak berpasangan pada orbital luarnya. Adanya satu atau lebih elektron

yang tidak berpasangan menyebabkan R^* berkecenderungan mencari elektron dijadikan pasangan untuk mencapai kondisi stabil dengan mengambil pasangan senyawa lain atau ditarik pada medan magnet tertentu (Priyanto, 2009). Radikal bebas diproduksi secara normal pada fungsi imunitas, diperlukan oleh sel imun untuk membunuh patogen dan mengeluarkannya, dalam keadaan over produksi pada kondisi patogenik dapat menyebabkan kerusakan sel imun. Bakteri, virus merupakan mikroorganisme yang dapat hidup dengan perkembangan radikal bebas dalam tubuh. Antioksidan diperlukan untuk menstabilkan radikal bebas tersebut, dengan adanya antioksidan yang cukup dapat meningkatkan sistem kekebalan tubuh terhadap bakteri, virus, dan mikroorganisme lainnya.

Berdasarkan penelitian sebelumnya ekstrak kulit buah manggis efektif sebagai antioksidan dan mempunyai aktivitas sebagai imunomodulator pada konsentrasi 7,5 $\mu\text{g/ml}$ dengan menggunakan fraksi butanol-air dalam sel proliferasi secara *in vitro* (Yu dkk., 2009). Untuk pengembangan penelitian imunomodulator pada kulit buah manggis, maka dilakukan penelitian

imunomodulator dengan menggunakan fraksi polar (etanol 70%) dari ekstrak etanol 70% kulit buah manggis, serta menggunakan berbagai konsentrasi yang mempunyai potensi sebagai imunomodulator melalui uji fagositosis pada mencit secara *in vitro* dengan parameter aktivitas dan kapasitas sel makrofag peritoneum mencit.

Metode Penelitian

Alat

Tabung maserasi, kertas saring, timbangan, neraca analitik, kandang hewan uji, penguap putar (*vacuum evaporator*), corong *Buchner*, kapas steril, blender, botol timbangan, oven (pemanas), eksikator, alat bedah steril (gunting, pisau bedah, pinset, jarum ose), mikro pipet, vial, kaca objek, *Laminar Air Flow* (LAF), *microscope digital*, spektrofotometer (Genenis), inkubator, serta peralatan gelas steril yang lazim digunakan di laboratorium.

Bahan

Kulit buah manggis, etanol 70%, larutan EDTA 0,2 M, larutan *Phosphate Buffered Saline* (PBS) dengan pH 7,8, larutan biru tripan, larutan giemsa 10%, dimetil sulfoksida (DMSO), medium *Nutrien Broth* (NB), Stimuno, minyak imersi dan sel makrofag yang berasal

dari peritoneum mencit yang berumur 2-3 bulan dengan bobot badan 25-30 gram.

Jalannya Penelitian

1. Aklimatisasi dan rancangan penelitian

Sebelum dikelompokkan, mencit diaklimatisasi terlebih dahulu di laboratorium percobaan. Rancangan penelitian yang digunakan adalah rancangan acak lengkap dengan 7 kelompok perlakuan, masing-masing kelompoknya terdiri dari 4 ekor mencit. Kelompok I merupakan kelompok kontrol negatif. Kelompok II merupakan kelompok kontrol positif. Kelompok III, IV, V, VI, dan VII merupakan kelompok uji.

2. Pembuatan larutan uji fraksi etanol dari ekstrak etanol 70% kulit buah manggis

Serbuk halus simplisia sebanyak 2 kg dimaserasi dengan cara menuangkan etanol 70% ke dalam sampel sampai seluruh sampel terendam dan pelarut dilebihkan setinggi lebih kurang 2 cm di atas permukaan serbuk simplisia. Tabung di tutup dan dibiarkan selama 24 jam, dilakukan pengadukan beberapa kali agar senyawa-senyawa terdapat pada simplisia dapat lebih larut. Kemudian disaring dengan menggunakan kertas

saring dan ampasnya direndam kembali selama 24 jam, kemudian disaring dengan menggunakan kertas saring, dilakukan secara berulang sampai filtrat hampir tak berwarna, selain itu untuk memastikan bahwa senyawa-senyawa yang ada dalam simplisia tersari seluruhnya maka dilakukan penapisan fitokimia terhadap ampasnya. Seluruh hasil maserat dicampur untuk dilakukan proses pemekatan ekstrak dengan menggunakan alat *vacuum rotary evaporator* pada suhu 50 °C sampai pelarut tidak tersisa lagi dan didapat ekstrak cair.

Setelah diperoleh ekstrak cair dari kulit buah manggis dilakukan fraksinasi dengan menggunakan pelarut n-heksan pada perbandingan 1:1 dalam corong pisah, kemudian dikocok hingga homogen. Setelah didiamkan beberapa menit terbentuk 2 lapisan yaitu lapisan n-heksan dan residu etanol. Residu etanol yang telah dipisahkan dari n-heksan kemudian difraksinasi dengan pelarut etil asetat pada perbandingan 1:1 dalam corong pisah, kemudian dikocok hingga homogen. Setelah didiamkan beberapa menit terbentuk 2 lapisan yaitu lapisan etil asetat dan etanol,

lapisan etanol yang telah terpisah dari etil asetat dinamakan fraksi etanol. Fraksi etanol diuapkan dengan *vacuum rotary evaporator* sampai diperoleh fraksi kental, kemudian fraksi tersebut dikeringkan dengan oven pada suhu 50 °C sampai didapat bobot konstan (Anonim, 2000; Harborne, 1987).

Fraksi etanol dari ekstrak etanol 70% dibuat 5 ragam konsentrasi yaitu: 0,1; 1,0; 10,0; 100,0; dan 1000,0 ppm dan dilakukan pengujian pada masing-masing konsentrasi, dilakukan 3 kali pengulangan.

3. Penyiapan suspensi bakteri

Staphylococcus epidermidis

Medium pertumbuhan bakteri uji *S. epidermidis* adalah *Mueller Hinton Medium* (MHM) dengan komposisi sari pati sapi 300 gram, *technical* 17,5 gram, *starch* 1,5 gram, agar 17 gram. Tiga puluh delapan gram disuspensikan dalam 1 liter air suling dengan pH akhir $\pm 7,3$. Media NB disiapkan dengan cara mensuspensikan 8 gram dalam 1 liter air suling, dengan pH akhir $\pm 6,8$. Medium-medium tersebut kemudian disterikan dalam autoklaf 121 °C selama 15 menit.

Setelah 24 jam masa inkubasi, bakteri *S. epidermidis* telah tumbuh

dan berkembang biak, diambil koloni yang tumbuh pada agar miring medium MHM dengan menggunakan ose steril. Koloni bakteri *S. epidermidis* ditanam pada medium NB cair secara aseptik, dan diinkubasikan pada suhu 37 °C selama 24 jam, kemudian disentrifuge selama 1 jam dengan kecepatan 1000 rpm. Cairan supernatan yang terbentuk pada bagian atas tabung reaksi dibuang. Endapan bakteri yang diperoleh disuspensikan dalam 10 ml PBS pH = 7,8 kemudian dilakukan penentuan jumlah bakteri secara spektrofotometrik ($\lambda=580$ nm, transmisi 25%) dan didapat jumlah bakteri setara dengan 10^9 sel/ml.

4. Pengambilan makrofag dari peritoneum mencit

Mencit dieuthanasia dengan menggunakan eter (dimasukkan ke dalam toples yang berisi kapas yang telah dibasahi eter), diletakkan pada papan bedah. Mencit lalu dibersihkan bagian perut dengan etanol 70% dan dibedah bagian abdomennya dengan menggunakan alat bedah steril. Jika ditemukan cairan peritoneum dalam jumlah sedikit pada perut ditambahkan larutan PBS steril sebanyak 1 – 2 ml, diaduk dengan

hati-hati, kemudian diambil dengan bantuan mikropipet. Jumlah sel makrofag disetarakan dengan alat hemositometer, hingga didapatkan populasi makrofag 10^7 sel makrofag/ml (Sriningsih, 2006).

5. Uji viabilitas

Uji viabilitas makrofag dilakukan dengan melihat kemampuan makrofag untuk hidup (daya hidup) yaitu dengan menggunakan alat hemositometer. Jumlah sel viabel (terwarnai) dan jumlah sel yang mati (tidak terwarnai) dihitung dengan bantuan larutan biru tripan 0,4% dalam larutan fisiologis, kemudian dihitung persen viabilitas dengan menggunakan mikroskop cahaya pada perbesaran 100 kali.

6. Pengujian fagositosis dan pewarnaan giemsa

Suspensi bakteri *S. epidermidis* 10^9 sel/ml 200 μ l, makrofag peritoneum mencit 10^7 sel/ml 200 μ l, dan fraksi uji 200 μ l dengan konsentrasi berbeda yaitu 0,1; 1,0; 10,0; 100,0; dan 1000,0 ppm, diinkubasikan selama 30 menit pada suhu 37 °C, ditambahkan 50 μ l larutan EDTA 0,2 M kemudian dihomogenkan dengan mengoyang-goyangkan. Sebagai kontrol positif digunakan suspensi bakteri *S. epidermidis* 10^9

sel/ml 200 μ l, makrofag peritoneum mencit 10^7 sel/ml 200 μ l dan imunomodulator pembanding Stimuno sebanyak 200 μ l. Sebagai kontrol negatif digunakan suspensi bakteri *S. epidermidis* 10^9 sel/ml 200 μ l, makrofag peritoneum mencit 10^7 sel/ml 200 μ l tanpa pemberian fraksi uji. Masing-Masing sampel diinkubasikan selama 30 menit pada suhu 37 °C kemudian ditambahkan 50 μ l larutan Na₂EDTA 0,2 M. Larutan ini kemudian dihomogenkan dengan alat homogenitas (*vorteks*). Preparat ulas dibuat setelah sebelumnya kaca objek dibersihkan dengan menggunakan etanol 70% kemudian difiksasi, direndam dengan metanol absolut, dan dibiarkan selama 5 menit. Kelebihan metanol kemudian dibuang. Preparat kemudian diwarnai dengan merendamnya dalam larutan pewarna Giemsa 10%, didiamkan selama 45 menit, dibilas dengan akuades mengalir. Preparat kemudian diletakkan pada posisi vertikal dan dibiarkan mengering di udara terbuka. Hasil diamati di bawah mikroskop cahaya. Aktivitas dan kapasitas fagositosis sel makrofag selanjutnya dihitung (Sriningsih, 2006).

7. Penetapan nilai aktivitas dan kapasitas fagositosis

Nilai aktivitas fagositosis adalah jumlah sel PMN dan sel makrofag yang secara aktif melakukan proses fagositosis dalam 100 sel dengan banyaknya sel makrofag yang dinyatakan dalam persen. Nilai kapasitas fagositosis adalah jumlah bakteri yang difagosit oleh 50 makrofag.

Hasil dan Pembahasan

Hasil Determinasi

Tanaman yang diperoleh dari Pasar Induk Kramat Jati kemudian dideterminasi di Herbarium Bogoriense, Bidang Botani Pusat Penelitian Biologi LIPI Cibinong. Hasil determinasi menunjukkan bahwa tanaman tersebut adalah *Garcinia mangostana* L., yang termasuk dalam suku *Guttiferae* (*Clusiaceae*).

Hasil Uji Karakterisasi Ekstrak dan Fraksi Etanol Kulit Buah Manggis

Simplisia yang telah dideterminasi kemudian dijadikan serbuk agar memudahkan pada saat pembuatan ekstrak. Pembuatan ekstrak dilakukan dengan penyarian secara maserasi menggunakan pelarut etanol 70%. Penggunaan etanol 70% didasarkan pada sifatnya yang tidak beracun dan netral. Selain itu kuman dan kapang sulit tumbuh pada etanol dengan konsentrasi

70%. Keuntungan lain adalah etanol lebih mudah bercampur dengan air pada berbagai perbandingan.

Metode penyarian yang dilakukan adalah dengan metode maserasi karena metode ini lebih sederhana baik cara pengerjaan maupun peralatannya. Selain itu, metode ini baik digunakan pada senyawa yang mudah terurai pada metode penyarian yang menggunakan pemanasan. Pada proses penyarian, cairan penyari akan menembus dinding sel dan masuk ke dalam rongga sel sehingga zat aktif dari kulit buah manggis akan larut. Pelarutan ini terjadi karena adanya perbedaan konsentrasi larutan zat aktif di dalam

dan di luar sel tanaman yang menyebabkan konsentrasi larutan yang lebih tinggi mengalir ke konsentrasi rendah (difusi osmosa) sehingga terjadinya keseimbangan antara konsentrasi di dalam dan di luar tanaman. Peristiwa ini berlangsung berulang-ulang dengan pemberian pelarut sampai senyawa aktif yang berada di dalam simplisia tertarik secara keseluruhan (Anonim, 1986). Hasil ekstraksi dan rendemen fraksi etanol kulit batang manggis, hasil uji penapisan fitokimia fraksi etanol 70%, dan hasil karakteristik fraksi etanol 70% disajikan pada Tabel 1-3.

Tabel 1. Hasil ekstraksi dan rendemen fraksi etanol kulit batang manggis

No	Jenis	Hasil
1.	Serbuk kering kulit buah manggis	2000,0 gram
2.	Ekstrak cair	4,6 liter
3.	Fraksi etanol 70%	137,95 gram
4.	Rendemen fraksi etanol 70%	6,89%

Tabel 2. Hasil uji penapisan fitokimia fraksi etanol 70%

No	Uji Penapisan	Hasil
1	Alkaloid	+++
2	Saponin	+++
3	Tanin	++++
4	Fenolik	+++
5	Flavonoid	++++
6	Triterpenoid	++++
7	Steroid	-
8	Glikosida	++++

Keterangan : - : Negatif +++ : Positif kuat
 + : Positif lemah ++++ : Positif kuat sekali
 ++ : Positif

Uji Viabilitas Sel Makrofag Peritoneum Mencit

Uji viabilitas dilakukan untuk mengetahui kemampuan hidup (daya hidup) yang dinyatakan dalam % dengan melihat jumlah sel hidup (terwarnai) oleh larutan *trypan blue*. Sel yang terwarnai *trypan blue* disebabkan

integritas dari membran yang baik (Hidayat, 2002). Hasil rata-rata uji viabilitas yang diperoleh dari penelitian ini sebesar 98,3% (Tabel 4) sehingga makrofag yang digunakan pada penelitian ini layak digunakan karena melebihi persyaratan % viabilitas yang tidak kurang dari 95% (Freshney, 1992).

Tabel 3. Hasil karakteristik fraksi etanol 70%

No	Karakteristik Pemeriksaan	Hasil Pemeriksaan
1	Organoleptis	
	a. Bentuk	Kental
	b. Warna	Merah kecoklatan
	c. Bau	Khas
	d. Rasa	Pahit
2	Kadar air	6,46 %
3	Kadar abu	5,01 %
4	Rendemen fraksi etanol 70%	6,89 %

Tabel 4. Hasil uji viabilitas sel makrofag peritoneum mencit

Ulangan	Jumlah Sel Hidup	Jumlah Sel Mati	Viabilitas (%)
I	97	3	97
II	98	2	98
III	100	0	100
Rata-rata	98,3	1,7	98,3

Uji Immunomodulator

Bakteri *S. epidermidis* digunakan sebagai antigen karena termasuk dalam jenis bakteri gram positif yang mampu mengikat warna Giemsa dengan jelas serta memiliki bentuk yang bulat sehingga memudahkan dalam perhitungan di bawah mikroskop. Keuntungan lain, bakteri ini tidak

mengandung protein A, yaitu protein yang bersifat antifagositik. Ketiadaan protein tersebut menyebabkan *S. epidermidis* tidak dapat menghindari fagositosis makrofag peritoneum. Selain itu ketiadaan protein A menyebabkan bakteri ini tidak bersifat virulen seperti halnya jenis *Staphylococcus* lain, misalnya *S. aureus* (Sriningsih, 2006).

Hasil pengujian aktivitas bermakna dengan kontrol positif. Pada fagositosis pada fraksi etanol 70% konsentrasi 1000 ppm, fraksi etanol kulit buah manggis menunjukkan aktivitas fagositosis yang setara dengan kontrol positif (Tabel 5).

Tabel 5. Nilai aktivitas dan kapasitas fagositosis sel makrofag peritoneum mencit pada fraksi etanol 70%

Kelompok Uji	Rerata Nilai Aktivitas (%)	Rerata Nilai Kapasitas (Bakteri))%)
Kontrol positif	95,67 ± 0,577	1546,67 ± 1,528
Kontrol negatif	72,67 ± 0,577	424,67 ± 1,528
Fraksi 0,1 ppm	82,67 ± 0,577	432,67 ± 2,571
Fraksi 1,0 ppm	85,67 ± 0,577	450,33 ± 2,571
Fraksi 10,0 ppm	90,33 ± 0,577	502,67 ± 2,082
Fraksi 100,0 ppm	92,33 ± 0,577	607,33 ± 2,082
Fraksi 1000,0 ppm	94,67 ± 0,577	748,67 ± 1,528

Kapasitas fagositosis ialah jumlah bakteri yang difagosit oleh 50 makrofag yang masih aktif. Hasil pengujian kapasitas antara kontrol positif, kontrol negatif dan fraksi etanol 70% dengan 0,1; 1,0; 10,0; 100,0; dan 1000,0 ppm menunjukkan perbedaan yang bermakna antar kelompok. Setelah uji normalitas dan homogenitas diterima dilanjutkan uji Analisa Varian Satu Arah (ANOVA) dan didapat nilai signifikan 0,000 ($p < 0,05$), menunjukkan adanya perbedaan aktivitas yang signifikan antar perlakuan. Pengujian statistic kemudian dilanjutkan dengan uji perbandingan Tukey. Berdasarkan uji statistik Tukey, terdapat perbedaan nilai aktivitas yang signifikan pada konsentrasi 0,1; 1,0;

10,0; 100,0 ppm terhadap kontrol positif, sedangkan pada konsentrasi 1000,0 ppm mempunyai aktivitas yang sama dengan kontrol positif. Untuk nilai kapasitasnya, fraksi etanol pada konsentrasi 0,1; 1,0; 10,0; 100,0; dan 1000,0 ppm memiliki nilai kapasitas yang lebih tinggi dibandingkan dengan kontrol negatif, tetapi masih dibawah kontrol positif. Dari analisa statistik ini dapat disimpulkan bahwa terdapat perbedaan yang bermakna dari aktivitas dan kapasitas fagositosis antar variasi konsentrasi yang digunakan. Aktivitas dan kapasitas fagositosis akan meningkat seiring dengan peningkatan konsentrasi yang diberikan, di mana aktivitas dan kapasitas fagositosis berbanding lurus

dengan konsentrasi fraksi etanol kulit buah manggis yang diberikan.

Kesimpulan

Pemberian fraksi etanol 70% kulit buah manggis mempunyai aktivitas imunomodulator karena efektivitasnya lebih besar dari kontrol negatif. Konsentrasi 0,1; 1,0; 10,0; 100,0 ppm mempunyai aktivitas lebih kecil dari kontrol positif, tetapi pada konsentrasi 1000,0 ppm mempunyai aktivitas yang sama dengan kontrol positif. Sedangkan untuk nilai kapasitasnya dari konsentrasi 0,1; 1,0; 10,0; 100,0; dan 1000,0 ppm dibandingkan dengan kontrol negatif memiliki nilai kapasitas yang lebih tinggi, tetapi masih dibawah kontrol positif (Stimuno).

Daftar Pustaka

- Anonim. 1986. *Sediaan galenika*. Jakarta: Departemen Kesehatan RI.
- Anonim. 2000. *Panduan teknologi ekstrak*. Jakarta: Departemen Kesehatan RI.
- Chaverri, J.P., Rodríguez, N.M., Ibarra, M.O., Rojas, J.M.P. 2008. Medicinal properties of mangosteen (*Garcinia mangostana* L.). *Food. Chem. Toxic.*, 46:3227-39.
- Freshney, R.I. 1992. *Animal cell culture - a practical approach*. Second edition. Oxford: Oxford University Press.
- Harbone, J.B. 1987. *Metode fitokimia: penuntun cara modern menganalisis tumbuhan*. Bandung: ITB Press.
- Hidayat, M.A. 2002. *Uji aktivitas antikanker ekstrak heksan daun Eupaorium triplinerve Vahl. terhadap kultur sel mieoloma*. Jember: FMIPA Universitas Jember.
- Mardawati, E., Achyar, C.S., Marta, H. 2008. *Kajian aktivitas antioksidan ekstrak kulit buah manggis (Garcinia mangostana L.) dalam rangka pemanfaatan limbah kulit buah manggis di Kecamatan Puspahiang Kabupaten Tasikmalaya*. Bandung: FTIP UNPAD.
- Priyanto. 2009. *Toksikologi mekanisme terapi antidotum dan penilaian resiko*. Depok: Lembaga Studi dan Konsultasi Farmakologi Indonesia (LESKONFI).
- Sriningsih, Wibowo, Eru, A. 2006, Efek protektif pemberian ekstrak etanol herba meniran (*Phyllanthus niruri* L.) terhadap aktivitas dan kapasitas fagositosis makrofag peritoneum tikus. *Media Pharmaceutica Indonesiana*, 6(2):91-6.
- Vieira, L.M., Kijjoa, A. 2005. Naturally-occurring xanthenes: recent developments. *Curr. Med. Chem.*, 12:2413-46.
- Yu, L., Zhao, M., Bao, Y., Weidong, B. 2009. Immunomodulatory and

anticancer activities of phenolics
from *Garcinia mangostana* fruit
pericarp. *Food Chem.*, 114(4):
969-73.